

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2003 年 7 月 31 日 (31.07.2003)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 03/061688 A1(51) 国際特許分類<sup>7</sup>: A61K 38/40, 9/14, 9/16, 9/20, 9/48,  
A61P 25/00, 25/04, 25/22, 29/00, 41/00, 43/00

(21) 国際出願番号: PCT/JP03/00350

(22) 国際出願日: 2003 年 1 月 17 日 (17.01.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願2002-11914 2002 年 1 月 21 日 (21.01.2002) JP(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社  
核内受容体研究所 (NUCLEAR RECEPTOR LIG-  
AND., LTD.) [JP/JP]; 〒213-0012 神奈川県 川崎市 高  
津区 坂戸 3 丁目 2 番 1 号 Kanagawa (JP).

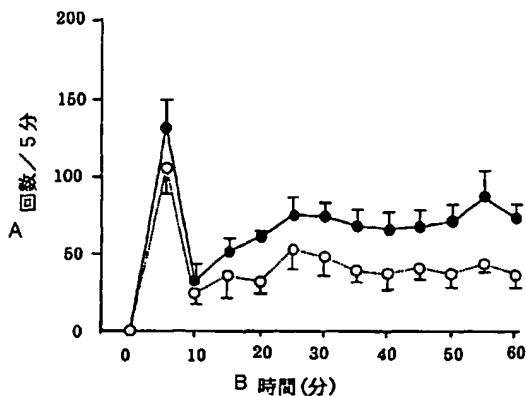
(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 原田 悦守  
(HARADA, Etsumori) [JP/JP]; 〒680-0941 鳥取県 鳥取  
市 湖山町北 3 丁目 2 番 1、6-5 0 2 Tottori (JP).  
竹内 崇 (TAKEUCHI, Takashi) [JP/JP]; 〒680-0945 鳥  
取県 鳥取市 湖山町南 3 丁目 2 1 2-5 Tottori (JP).  
林田 健一郎 (HAYASHIDA, Ken-ichiro) [JP/JP]; 〒  
680-0941 鳥取県 鳥取市 湖山町北 1 丁目 3 8 5、  
C-1 0 5 Tottori (JP). 安藤 邦雄 (ANDO, Kunio)[JP/JP]; 〒213-0033 神奈川県 川崎市 高津区 下  
作 延 1 8 7 7 番地 2 6 Kanagawa (JP). 清水 洋彦  
(SHIMIZU, Hirohiko) [JP/JP]; 〒411-0803 静岡県 三島  
市 大場 1 0 8 6-1 3 3 Shizuoka (JP).(74) 代理人: 社本 一夫, 外 (SHAMOTO, Ichio et al.); 〒  
100-0004 東京都 千代田区 大手町二丁目 2 番 1 号 新大  
手町ビル 2 0 6 区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo  
(JP).(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,  
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,  
DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,  
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,  
LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO,  
NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL,  
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU,  
ZA, ZM, ZW.(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ,  
SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM,  
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許  
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,  
GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR), OAPI  
特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,  
MR, NE, SN, TD, TG).添付公開書類:  
— 国際調査報告書

[続葉有]

(54) Title: NOVEL ANALGESICS

(54) 発明の名称: 新規鎮痛剤

A...FREQUENCY/5 MINUTES  
B...TIME (MINUTES)(57) Abstract: It is intended to provide novel medicinal composi-  
tions for eliminating pain and anxiety. Namely, medicinal composi-  
tions containing lactoferrin as the active ingredient. These composi-  
tions are useful in treating at least one disease or condition se-  
lected from among the group consisting of pains including pain at  
the first phase and pain at the second phase, anxiety and stress.  
In particular, these compositions are useful in relieving or elimi-  
nating pain and anxiety which seriously worsen the quality of life  
of terminal cancer patients. These compositions are also useful in  
treating pains including pain in the first phase and pain in the sec-  
ond phase and inflammation accompanying arthritis or diseases at  
bones/joints (for example, rheumatoid arthritis, arthritis deformans,  
stiff shoulder due to age, traumas caused by exercises such as ten-  
nis elbow syndrome and baseball shoulder, low back pain).

[続葉有]



2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

---

(57) 要約:

本発明は疼痛および不安の解消のための新規な医薬組成物を提供することを課題とする。本発明はラクトフェリンを有効成分として含む医薬組成物に関する。本発明の組成物は、第一相の痛みおよび第二相の痛みを含む痛み、不安およびストレスからなる群より選択される少なくとも一つの疾患または状態を処置するために有用である。特に末期ガン患者における生活の質を著しく損なう疼痛および不安を緩和ないし解消させるのに有用である。本発明の組成物はまた、関節炎または骨接合部位の疾患（例えば、慢性関節リウマチ、変形性関節症、四十肩及び五十肩、テニス肘および野球肩等のスポーツ外傷ならびに腰痛）に伴う第一相の痛みおよび第二相の痛みを含む痛み、並びに炎症を処置するために有用である。

## 明 細 書

## 新規鎮痛剤

## 5 技術分野

本発明は、ラクトフェリンを含む医薬組成物に関する。本発明の組成物は、第一相の痛みおよび第二相の痛みを含む痛み、不安およびストレスからなる群より選択される少なくとも一つの疾患または状態を処置するために有用である。特に末期ガン患者における生活の質を著しく損なう疼痛および不安を緩和ないし解消させるのに有用である。本発明の組成物はまた、関節炎または骨接合部位の疾患（例えば、慢性関節リウマチ、変形性関節症、四十肩及び五十肩、テニス肘および野球肩等のスポーツ外傷ならびに腰痛）に伴う第一相の痛みおよび第二相の痛みを含む痛み、並びに炎症を処置するために有用である。

## 15 背景技術

1981年から日本人の死因の第1位を占めているのは“ガン”で、高齢化社会の到来と共に年々増加の一途をたどっている。ガン患者に耐え難い苦痛を与える疼痛が発現する頻度は病状の悪化とともに増加し、80%の末期ガン患者は持続する激しい疼痛に苦しみ、それとともに患者は死への恐怖から極度に不安な状態に陥る。

不安感の大部分は疼痛に由来しているので、WHOはガン性疼痛の治療に鎮痛薬の3段階使用を提案しており、最終段階に使われるのはモルヒネ類である。第1段階の穏やかな痛みを鎮めるために使われるのは、アセトアミノフェン、アスピリン、イブプロフェン等の非麻薬性鎮痛剤であり、補助薬剤として特殊な痛みや、他の症状を抑える薬として抗うつ剤、抗てんかん剤、制吐剤、抗不安剤等が使われる。第二段階の中等度の痛みを抑えるためには、弱い麻薬性鎮痛剤とその他の鎮痛剤が併用される。弱い麻薬性鎮痛剤の代表としては、コデイン、オキシコドン配合剤等があげられる。最終段階の耐え難いガンの痛みからの解放を

目的に、各種のモルヒネ製剤が開発されてきた。一方、患者の不安感を除去するには、抗ストレスホルモンであるグルココルチコイド剤（いわゆるステロイド）が頻用されている。

- 5 適切な痛みの治療がどうしても必要なのは、疼痛からの解放が患者の生活の質（QOL）向上のためばかりでなく、疼痛は患者が病気と闘うエネルギーを奪うからでもある。痛みの治療が十分でないと、患者は不安に陥り、ガンと闘い抗ガン治療を受けるためのエネルギーが出にくくなる。痛みの緩和治療が不十分な場合、ガン治療の根底を危うくしかねないのである。極めて重要な点は、痛みは不必要なものであり、患者の容態を悪化させるだけであるということである。痛み
- 10 の治療は緊急の問題とすべきであって、後回しであってはならない。つまり、疼痛治療はガンそのものの治療と同じぐらい大切なのである。痛みは患者の病状に大きな影響を与えるので、この二つを分けて考えるべきでなく、疼痛治療とガン治療は不即不離のものである。

15

- 痛みは気持ちのあり方によって支配される度合いが高く、ガン患者は家族に囲まれた自宅で、一日のリズム、一週間のリズムの中に暮らす方が痛みの程度も軽い。疼痛治療はできることなら、入院治療より在宅治療の方が効果は高い。しかし、在宅でのガン治療の問題点は、モルヒネとステロイドの使用法が末端の医療
- 20 機関に普及していないことである。ステロイドを投与して食欲不振がせっかくよくなっても、専門医療機関から退院すると地域の医師がステロイドを危険視して服用を止めさせてしまう例が多い。そしてモルヒネおよびステロイドは服用に際しては非常に注意を要する薬物であるから、投与を中止することも一概に間違った措置として退けることはできない。

25

ガン治療においてモルヒネとステロイドが制約を受けず使用できるのは、それらが患者を疼痛と不安から解放し、人間としての尊厳を維持しつつ死を迎えさせる終末医療の一環として用いられるためである。

しかしながら、モルヒネは乱用すると薬物依存症に陥り、それから離脱することが著しく困難である。また、モルヒネは腸管の蠕動運動を抑制するため、腹部が膨満し極度の便秘が起こる。ガン患者は食欲不振のため健常者と比べ食物摂取が細っていることに加え、極度の便秘のため、便通は7～10日に1回になるこ

- 5 とも珍しくない。古い大便が体内に長期滞留することは、正常な代謝機能および免疫機能に悪影響を及ぼすことは必至である。モルヒネによる便秘に対し、主として緩下剤が処方されているが、有効性には限界がある。便秘を起こさないモルヒネ製剤はまだ出現していない。さらに、モルヒネは嘔吐を起こさせることでも知られている。モルヒネによる嘔吐は、投与経路による発生率の差はなく、すく
- 10 なくとも 1/3 の患者に発生し、制吐薬の併用が不要な患者は、1/3 に過ぎないといわれている。このように発生頻度が高いので、すべてのモルヒネ投与患者は投与開始と同時に制吐薬を併用すべしとする意見さえある。催吐作用への耐性は比較的早く出現するため、制吐薬が必要な期間はモルヒネの投薬開始からおよそ2週間であることが多いが、制吐薬併用による医療コスト上昇は問題である。その
- 15 上、眠気はモルヒネ使用患者の約 20%に起こる副作用である。その他、呼吸抑制、混乱、幻覚、ふらつき感、血圧低下、発汗、掻痒症等の副作用がモルヒネには認められる。そして、約半数にみられる口内乾燥は、QOL を大きく損なう副作用である。これらの副作用は患者に不快感を与えると同時に、その対応のため医療コストの上昇圧力として作用する。

20

- 抗ストレスホルモンとして使用されるステロイドも多彩な副作用を持っている。もっとも警戒すべき副作用は、免疫抑制である。ガン患者における死因の大部分は、免疫能低下にともなって日和見病原菌が侵入し、それに続いて多臓器不全が惹起されるためといわれる。したがって、免疫能を低下させるステロイドがガン
- 25 患者の生命を短縮している可能性は否定できない。さらに、ステロイドは強い異化作用を持っているので、患者の衰弱を加速して生存期間を短縮していることも考えられる。また、ナトリウムの尿排泄が抑制されることによる全身性の浮腫と尿閉、骨のカルシウム溶出を促進することによる骨折等もステロイドの副作用である。

ガン患者の疼痛と不安が良好にコントロールされている場合でも、容態が短時間で急変することは稀でない。これをガン性緊急症と呼んでいる。ガン性緊急症としては、呼吸困難、疼痛の増強、意識障害・錯乱、尿閉、骨折、出血、上肢の  
5 麻痺・脱力、半身麻痺等があげられる。これらの症状がモルヒネおよびステロイドの過剰投与と無縁とは思われない。

ガンの疼痛とそれにともなう患者の不安管理は、極限状態における医療であって、ガン以外にも疼痛と不安をコントロールする必要がある疾病は多数にのぼる。  
10 つまり、疼痛とそれにともなう不安を解消させることは、医療の中でも重要な地位を占めている。したがって、モルヒネあるいはステロイドにみられるような副作用をともなわず、低いコストで疼痛を改善し、不安を解消する手段は社会的なニーズが非常に高いと考えられる。

15 他方、関節炎にともなう疼痛や腰痛もまた非常に深刻な問題である。関節炎には慢性関節リウマチ、変形性関節症、五十～四十肩、スポーツの外傷による関節炎等が主要なものである。腰痛は骨接合部の疼痛である。

慢性関節リウマチは、多発性の関節炎がおこる慢性の炎症疾患であるが、女性  
20 に男性の 3 倍以上みられ、30 歳代から 50 歳代で発病することが多いとされている。発症には、体質素因、免疫医学的要因、環境因子の 3 つが重要視されている。免疫学的要因では、リウマトイド因子が関節の中で産生され免疫グロブリン G と結合して関節炎を引き起こし、関節の破壊が進行するとされている。環境因子では、寒冷、湿気、ストレス、ウイルス感染等があげられる。初期の症  
25 状の多くは、起床時に関節がこわばり、関節の痛みと腫脹があり、よくおかされる関節は、手足の指、手、足、肘、膝、肩等で、進行すると変形することもある。また、関節症状だけでなく、脱力感、倦怠感、微熱等全身症状を伴うこともある。一旦、慢性関節リウマチを発症すると完全な治癒は難しく、患者は生涯この病気とつき合わねばならない。悪化を防ぐため、患者は心身の安静と適度な運動、ビ

タミン、ミネラル、たんぱく質の摂取、冷えや湿気の防御に心掛ける必要がある。

- 変形性関節症は非炎症性であり、可動関節、特に荷重のかかる関節が徐々に変形をきたし疼痛および可動域制限をきたす疾患である。病理学的には関節軟骨の  
5 荒廃、軟骨下骨の骨新生を特徴とする。本症は、加齢とともに起こってくる一次性と外傷、慢性関節リウマチ等の基礎疾患に伴って出現してくる二次性に分類される。変形性関節症の病因と病気の成り立ちは次のように考えられている。本態性変形性関節症は関節軟骨の老化現象であり、加齢、代謝障害、循環障害、肥満、性ホルモンの影響等も示唆されており、これに機械的影響が加わって出現する。  
10 続発性変形性関節症の基礎疾患としては、外傷、慢性関節リウマチ、アルカプトン尿症、ヘモクロマトーシス、痛風、Charcot 関節等がある。成人人口の半数以上が本症を有しているといわれ、頻度は加齢とともに幾何級数的に増加し、60歳以上では軽症を含めて本症を有していない症例は例外的である。男女比はほぼ同数である。

15

五十～四十肩、テニス肘、野球肩および各種の腰痛も一般的な骨と骨の接合部に痛みを生ずる特徴があることから、関節の病気に分類できる特徴を備えている。これらの疼痛は生命を脅かす恐れはないが、一般に難治性で長い経過をたどる。

- 20 今日、慢性関節リウマチおよび変形性関節症等の関節の疼痛あるいは腰痛のように骨の接合部位の痛みを緩和するために日常的に処方される薬剤は、非ステロイド系鎮痛消炎剤と総称されるアスピリン、インドメサシン、イブプロフェン、ジクロフェナック等、数十種類の合成化合物と、ステロイドと俗称される合成グルコルチコイドホルモン等である。

25

疼痛を媒介するのはプロスタグランジンであり、非ステロイド系鎮痛消炎剤によってシクロオキシゲナーゼを阻害してプロスタグランジン生合成を減少／停止させれば、疼痛は緩和する。しかしながら、プロスタグランジンは胃の血行動態を支配しているため、胃における産生が阻害されると、血流が低下した胃は消化

性潰瘍を多発するようになる。これまでの非ステロイド系鎮痛消炎剤は、プロスタグランジン産生に当たって律速となるシクロオキシゲナーゼ-1 および 2 の双方を阻害する諸刃の剣であった。最近における非ステロイド系鎮痛消炎剤分野におけるトピックは、炎症部位で発現するシクロオキシゲナーゼ-2 (cox-2) を特  
5 異的に阻害する cox-2 阻害剤の出現である。cox-2 阻害剤は、非ステロイド系鎮痛消炎剤に不可避であった消化性潰瘍を減らすことができると期待されている。

副腎皮質ホルモンのグルココルチコイド（いわゆるステロイド）も関節炎の治療に頻用される。ステロイドは関節炎に対し劇的な改善効果を示す反面、多彩な  
10 副作用のため使用が著しく制約されている。ステロイドによる治療は、免疫能を低下させて感染症に罹りやすくさせ、消化性潰瘍を多発させ、糖尿病を誘発する等、重大な副作用をもたらす。また、投与を中断すると投与前より症状を悪化させる反跳現象（リバウンド）を呈する。

15 金製剤、ペニシラミン、免疫抑制剤、抗インターロイキン-6 抗体等も関節炎の治療に用いられるが、これらも限られた範囲で処方されるに過ぎない。

関節の疼痛は、治癒が見込める五十〜四十肩、腰痛、スポーツに伴う関節痛であっても、極めて長期の経過を取ることが特徴であり、さらに、慢性関節リウマチ、変形性関節症は完治が困難で、いったん発症すると患者は生涯にわたって病  
20 気とつき合う運命にある。関節の疼痛を鎮めるには、温泉浴のような物理的な鎮痛法もあるが、非ステロイド系消炎鎮痛剤およびステロイド等による薬物療法が主流である。既に述べたようにこれらの薬剤は、長期投与すると消化性潰瘍を高い頻度で誘発する。したがって、消化性潰瘍を誘発させることなく、高度の安全性  
25 をもって関節の疼痛を改善できる方法が、長年探し求められてきた。

ラクトフェリンは、いろいろな哺乳動物の乳汁中に含まれる鉄結合性蛋白質である。1939 年に牛乳中に発見され、その後、ウシ以外の多くの哺乳動物の乳汁中に含まれていることが判明した。1960 年、牛乳および人乳からはじめて単離



され、既にペーカー等は X 線回折法によりその構造決定を行っている（ペーカー等、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 1769-1773, 1987 年）。ヒトでは、乳汁はもとより涙、鼻汁、唾液、気管支および子宮粘液、精液、胆汁、腓液等の外分泌液、血漿、尿、羊水等の体液、好中球の二次顆粒等からも分離され、好中球の半減期から一日あたり約 5 グラムほどが生合成されていると考えられている。

ラクトフェリンは分布が広汎であり、かつ生体内で多量に産生されていることから、いろいろな業界でその応用が検討されてきた。動物個体レベルで微生物の感染を阻止する作用（宮崎等、Chemotherapy 39: 829-835（1991））に加え、ガンに関連した作用としては、抗ガン作用（Bezault et al., Cancer Res. 54: 2310-2312（1994））、発ガン予防（関根等、Jpn. J. Cancer Res. 88: 523-526（1997））、転移阻止（久原、臨床免疫 34: 376-381（2000））、さらに血管新生を阻害することによるガン転移の阻害（島村等、第 60 回日本ガン学会総会記事（2001 年 10 月））が報告されてきた。また、ラクトフェリンは生体内の分布が広汎で、多量に産生されていることから、いろいろな役割を担っていると推定される。特に、生体が外界と直接接触する眼、口腔および消化管粘膜、鼻腔、気管支等をおおう粘液に存在することから、病原微生物およびウイルスの感染を防御する最初の防壁としての役割が強調されてきた。さらに最近では、C 型肝炎治療、大腸ガンの二次予防、白癬菌の皮膚感染症等の分野で臨床応用が進められている。しかしながら、疼痛改善および不安解消のためにラクトフェリンを有効に用いることができたという報告はなく、またラクトフェリンを経口投与して慢性関節リウマチ、偏性性関節症、五十～四十肩、慢性腰痛、テニス肘、野球肩の治療を試みた例は知られていない。

## 25 発明の開示

本発明者等は長年にわたりラクトフェリンの作用について研究を重ねてきた。

本発明者等が GLP 対応で実施したビーグル犬およびラットの毒性試験では、牛乳から抽出したラクトフェリン（ニュージーランド、Tatua 乳業会社製、純度 87%）は、物理的な限界量を動物に経口投与しても何らの毒性も示さなかつ

- た。1 回投与による急性毒性試験では、最高投与量の 5g/kg でも異常所見はまったく認められなかった。最高投与量を 2 g/kg に設定した兩種動物における 3 ヶ月間の亜急性毒性試験でも、急性毒性試験と同様に異常所見は一切なかった。したがって、ラクトフェリンは経口投与すると、まったく毒性がなく、ガン患者のような immunocompromized hosts に頻発する日和見感染症を防御し、ガン予防、ガンの成長阻止、転移防止および転移巣を破壊する等々、ガン治療薬として理想に限りなく近い性質を持っていると考えられた。また、老齢の患者のような免疫能が低下した患者に投与しても極めて安全であると考えられた。
- 5
- 10      そこで、本発明者らは、牛乳から抽出したラクトフェリンを腸溶錠とし、末期ガン患者のボランティアに内服を依頼して成績を集計した。その結果、ラクトフェリン腸溶錠を内服した患者は一様に疼痛から解放され、さらに不安が解消されたため食欲が増加する効果を一応認めた（特願 2000-357573 参照）。
- 15      また、本発明者らは、齧歯類動物を用い、（1）ホットプレートテスト、（2）ホルマリンテスト、（3）酢酸ライジングテスト等の痛みに関連した動物実験を行い、ラクトフェリン投与の有無が実験動物の痛覚に及ぼす影響を検討した。その結果、いずれのテストでも事前にラクトフェリンを投与すると、実験動物は痛覚刺激に対し感覚が鈍麻すること、すなわち、ラクトフェリンは疼痛を緩和する効果があることを発見した。本発明者らは、さらに、ラクトフェリンの鎮痛効果を代表的な非ステロイド系鎮痛消炎剤であるジクロフェナックと比較したところ、ジクロフェナックが無効の第一相疼痛に対しラクトフェリンは用量依存性に鎮痛効果を示すこと、第二相疼痛に対する鎮痛作用も抑制強度および持続時間の点でジクロフェナックより優れていることを見いだした（本明細書の実施例
- 20
- 25      1～3 参照）。

魚類に経口投与したウシラクトフェリンがストレスを緩和していることを示唆する事実は、既に角田が報告している（角田、Exc. Med. Int. Congr. Ser. 1195: 429-441, 2000 年）が、本発明者らは、ラクトフェリンが哺乳動物でも抗ストレ

ス作用を発揮するかどうかについて詳細に検討した。その結果、ラクトフェリン投与がラットにおいてもストレスを緩和し、胃潰瘍発症を軽減することを見いだした（本明細書の実施例 4 参照）。

- 5      また、本発明者らは、ラクトフェリンの腸溶錠を関節炎、五十～四十肩、腰痛、テニス肘、野球肩の患者に経口投与したところ、全く副作用を呈することなく関節の疼痛を有意に改善することを見いだした（実施例 9～11 参照）。

- さらに、本発明者らは、実験動物モデルとしてラットのアジュバント関節炎を用い、関節が腫脹した後肢のアジュバント投与足を 10 回折り曲げ、ラットが痛  
10      がって悲鳴を上げた回数を記録する方法により、ラクトフェリンの経口投与が関節の疼痛に及ぼす効果を評価した。ちなみに、健常ラットは、後肢の関節を折り曲げても痛くないので悲鳴を上げないが、アジュバント関節炎発症後は過敏な痛覚反応を呈するようになる。アジュバント関節炎ラットにラクトフェリンを投与  
15      すると、腫脹した関節を折り曲げても、悲鳴を上げる回数が有意に減少した。すなわち、ラクトフェリンには関節炎局所でも痛覚を鈍麻させる作用があることを見いだした（本明細書の実施例 5～7 参照）。ラクトフェリンの関節炎局所における痛覚鈍麻作用は、多方面に応用を可能にする新規な発見である。

- 20      また本発明者らの検討によれば、経口投与されたラクトフェリンはオピオイド系を介した鎮痛メカニズムで関節炎の疾病を改善するだけでなく、免疫系の活性化を抑制することによって、炎症の予防および治療効果を示すことが明らかになった（実施例 8 参照）。さらに本発明者らの検討によれば、ラクトフェリンはモルヒネ様の鎮痛作用を有するのみならず、モルヒネの鎮痛作用を増強する効果  
25      を示すことが明らかになった（本明細書の実施例 12 および 13 参照）。

本発明者らは、このような新規かつ有用な知見に基づき、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明は、ラクトフェリンを有効成分とする新規な鎮痛剤を提供する。

### 図面の簡単な説明

図 1 は、ラクトフェリン投与による足上げ行動の減少を表すグラフである（実施例 1）。一群 5 頭の平均値および+または-標準誤差を示した。●は対照群、○はラクトフェリン投与群を表す。

図 2 はホルマリン注射後の 50 分間における第二相の足上げ回数を表すグラフである（実施例 1）。\*\*  $P < 0.01$  (Student's t-test)、バーは  $\text{mean} + \text{SE}$ 。

図 3 は、ラクトフェリン経口投与による足上げ行動の減少を表すグラフである（実施例 2）。一群 7 頭の平均値および+または-標準誤差を示した。●は対照群、○はラクトフェリン投与群。

図 4 は、ホルマリン注射後の 50 分間における第二相の足上げ回数を表すグラフである（実施例 2）。\*\*  $P < 0.01$  (Student's t-test)、バーは  $\text{Mean} + \text{SE}$ 。

図 5 は、ホルマリン注射後の 50 分間における足上げ回数を表すグラフである（実施例 3）。左側のグラフは第 1 相、右側のグラフは第二相の結果を表す。

図 6 はホルマリン注射後の 50 分間における足上げ回数を表すグラフである（実施例 3）。左側のグラフは第 1 相、右側のグラフは第二相の結果を表す。

図 7 は、ジクロフェナックの疼痛抑制効果を表すグラフである（実施例 3）。

図 8 は、ラクトフェリンの疼痛抑制効果を表すグラフである（実施例 3）。

図 9 は、ラットの後肢の写真である（実施例 5）。上段；正常ラット、中段；アジュバント処置ラット、下段；ラクトフェリンを経口投与したアジュバント処置ラット。各段とも、-1 は処置足、-2 は反対足。

図 10 は、アジュバンド処置足およびアジュバンド未処置足それぞれの膨張率(%)を示したグラフである（実施例 5）。

図 11 は、Flexion test の結果を示したグラフである（実施例 5）。

図 12A～C は、ラクトフェリンのアジュバンド関節炎ラットにおける治療効果を示したグラフである（実施例 6）。順に、アジュバンド処置足の容積率、アジュバンド非処置足の容積率、Flexion test の結果を示す。それぞれ、●は対照群、□はラクトフェリン群、○はデキサメタゾン。

図 13 は、ラクトフェリンを単回投与した場合の、アジュバンド処置足および

アジュバンド非処置足それぞれにおける痛覚過敏反応抑制効果を示したグラフである（実施例 7）。

図 14 は、ラクトフェリンのサイトカイン産生抑制効果を示すグラフである（実施例 8）。

- 5 図 15 は、ラクトフェリン脊髄投与の疼痛抑制効果をモルヒネのそれと比較して示すグラフである。\*\*\* $P < 0.005$ , \*\*\*\* $P < 0.001$  (vs. control, Student's t-test) . \*\* $P < 0.01$  (vs. control, Dunnett's test)

- 図 16 は、ラクトフェリンによるモルヒネの鎮痛作用の増強効果を示すグラフである。ラクトフェリンの同時投与、■はあり、●はなし。\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$   
10 (vs. control, Dunnett's test)

- 図 17A は、ラクトフェリン腸溶錠を経口投与した場合の血中のラクトフェリン濃度を示したグラフである（実施例 14）。図 17B にはラクトフェリン腸溶錠の投与および血液採取スケジュールを表した。

## 15 発明の詳細な説明

- 本発明の新規鎮痛剤は、ラクトフェリンを有効成分として含む組成物である。本発明の組成物には、経口投与した場合に、本発明者らの発見した作用を発揮する限り、いかなるラクトフェリンをも用いることができる。ラクトフェリンは分子量が 8 万程度の高分子であり 2 個の 3 価鉄イオンとキレートをつくる性質があるが、本明細書でいう「ラクトフェリン」には、鉄イオンフリーの型から完全に鉄イオンが飽和された型の全てが含まれ、また由来を問わず、ヒト、ウシ、組み換え型等、あらゆるラクトフェリンが含まれる。また、ラクトフェリン自体の代わりに、ラクトフェリンの均等物（例えば、ラクトフェリン群タンパク質またはラクトフェリン群タンパク質の酵素分解物）を用いてもよい。このような組成物もまた、本発明の範囲に含まれる。「ラクトフェリン群タンパク質」には、ラクトフェリンおよびコンアルブミンが含まれ、「ラクトフェリン群タンパク質の酵素分解物」には、ラクトフェリン群タンパク質のラクトフェリシンに相当するペプチドが含まれる。本発明の組成物は、ラクトフェリン（またはラクトフェリン群タンパク質またはラクトフェリン群タンパク質の酵素分解物）の 1 種類
- 20  
25

のみのを含んでいてもよく、また2種類以上を含んでいてもよい。

本発明の組成物は、経口剤、注射剤、座剤、貼付剤、点滴剤、含嗽剤、トローチ等の剤型で実用に供することができる。経口用の粉末剤、散剤、顆粒剤、錠剤、  
5 カプセル剤、丸剤若しくは液剤、又は注射剤の形態とすると特に実用に適する。  
本発明の組成物は、食品、飲料、ドリンク剤の形態であってもよい。また、本発明の組成物を食品や飼料中に添加して投与することもできる。

本発明の組成物を製剤化する際に用いる賦形剤としては、乳糖、蔗糖、グルコース等の単糖ないし二糖類、コーンスターチ、ポテトスターチのような澱粉類、  
10 結晶セルロース、無機物としては軽質シリカゲル、合成珪酸アルミニウム、メタ珪酸アルミン酸マグネシウム、リン酸水素カルシウム等がある。また、結合剤としては澱粉類、カルボキシメチルセルロース（CMC）、ヒドロキシプロピルセル  
15 ロース（HPC）、カルボキシメチルセルロースナトリウム塩、ポリビニル  
ピロリドン等がある。また、下部消化管でもとの一次粒子にまで崩壊させることを目的として用いる崩壊剤としては、澱粉、カルボキシメチルセルロースナ  
トリウム塩、カルボキシメチルセルロースカルシウム塩、クロスカルメロースナ  
トリウム、カルボキシメチルスターチナトリウム等がある。錠剤ならびに顆粒を  
20 腸溶性に被覆するための皮膜剤としては、PH5～6で溶解するヒドロキシプロピ  
ルメチルセルロースフタレート、カルボキシメチルエチルセルロース、酢酸フタル酸セルロース、メタクリル酸コポリマーや、アルカリ性領域で溶解するシェラ  
ック等がある。

本発明の組成物は、乾燥状態で製剤化することが好ましい。本発明の組成物の  
25 有効成分であるラクトフェリンは、高温・多湿では不安定だからである。詳細には、ラクトフェリンのアミノ基と賦形剤等に存在する還元基との間ではアミノ  
カルボニル反応が生じうる。これはさらに多段階を経て、不可逆的に反応物の重合による褐色色素の形成に至る（褐変反応）。酸化を触媒する物質の存在や、高  
温は、この反応を促進する。すなわち、ラクトフェリンを製剤化する際、水が存

在するとラクトフェリンに含まれる  $\text{Fe}^{3+}$ 等の影響で、アミノ-カルボニル反応が促進されうる。また打錠による発熱もまた、この反応を一層促進する。よって、薬理効果の維持された安定なラクトフェリン製剤を得るためには、製剤化はできるだけ乾燥状態で行うのがよい。

5

ラクトフェリン粉末は通常、非常に比重が軽いためにそのまま打錠できないことから、より薬理効果の維持された安定な錠剤の形態である本発明の組成物を得るには、例えば、有効成分と賦形剤、結合剤、崩壊剤を混合し、混合物をスラグマシンで強圧成型し薄い大きな平たい円盤をつくり、それを砕いて篩過し、一定の大きさの顆粒をそろえる。そして錠剤とする場合には、顆粒に滑沢剤を加えて打錠し、錠剤を所望によりコーティング皮膜で覆って製品化するのがよい。また、カプセル剤とする場合には、顆粒の一定量をカプセルに充填して、カプセル剤とするのがよい。

15 経口用組成物である本発明の組成物は、腸溶性の製剤とすることが好ましい。本発明者らは、先にした国際出願 PCT/JP01/10212 (WO02/41912) で詳述しているように、腸管粘膜上にはラクトフェリン・センサーともいうべき構造が存在するとの仮説を有しており、他方、ラクトフェリンが、ペプシンに対して感受性は強いが他のプロテアーゼに対しては著しく抵抗性であるとの知見を有している。

20 すなわち、腸管粘膜上に作用部位が存在し、かつペプシンに対して高感受性であるラクトフェリンにおいては、腸溶性の製剤とすることに特に技術的意義を有する。

腸溶性とするには、胃液に対しては抵抗性があり、小腸内で溶解する基剤、例えばシェラック、ツェイン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース・フタレート、カルボキシメチルエチルセルロース、酢酸フタル酸セルロース、メタクリル酸コポリマー、水に不溶のエチルセルロースおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマーからなる群より選択される基剤を主成分とする皮膜で、腸溶性のカプセルに有効成分を含む顆粒を充填するか、または有効成分を含む顆粒に滑沢剤を

加えて打錠して得た錠剤をコーティングするとよい。

特に本発明者らは、ラクトフェリン腸溶錠を内服した者の血液中に、ラクトフェリンを確認した。このような知見は既存のラクトフェリン製剤では得られてこ  
5 なかった。腸溶性製剤の形態であるものは、本発明の好ましい実施態様の一つである。さらに、乾燥状態で製剤化された腸溶性製剤の形態であるものは、本発明の特に好ましい実施態様の一つである。

製造された組成物が、腸溶性であるか否かは、塩化ナトリウム 2.0g に希塩酸  
10 24ml および水を加えて溶かし、1000ml とした第一液（pH1.2、日本薬局方・一般試験法 41）および 0.2M リン酸 2 水素カリウム試液 250ml に 0.2N 水酸化ナトリウム試液 118ml および水を加えて 1000ml とした第二液（pH6.8）を用いて崩壊性を試験することにより、確認することができる。第一液に 120 分間浸しても崩壊せず、第二液中では 60 分間浸すと崩壊する錠剤または顆粒は、胃  
15 では溶解せず、十二指腸に流入して始めて崩壊し、有効成分が溶出されるものであり、腸溶性であると判断することができる。

本発明の組成物は、第一相の痛みおよび第二相の痛みを含む痛み、不安および  
20 ストレスからなる群より選択される少なくとも一つの疾患または状態を処置するために有用である。特に末期ガン患者における生活の質を著しく損なう疼痛および不安を緩和ないし解消させるのに有用である。本発明の組成物はまた、関節炎または骨接合部位の疾患に伴う第一相の痛みおよび第二相の痛みを含む痛み、並びに炎症を処置するために有用である。関節炎または骨接合部位の疾患には、例えば、慢性関節リウマチ、変形性関節症、四十肩及び五十肩、テニス肘および野  
25 球肩等のスポーツ外傷ならびに腰痛が含まれる。本明細書でいう「処置」は、特別な場合を除き、対象とする疾患又は状態の、予防、治療又は解消および緩和を含む。また、本明細書でいう「第一相の痛み」は、特別な場合を除き、局在の明らかな刺すような鋭い痛みをいう。また、「第二相の痛み」は、遅れてから長く続く焼けるような痛みを含む。



本発明の組成物は、他の医薬、例えば鎮痛剤（モルヒネ、コデイン、ジヒドロコデイン、エチルモルヒネ、オキシコドン等の麻薬性鎮痛剤）、抗炎症剤・抗アレルギー剤（例えば被ステロイド性抗炎症剤、ステロイド性抗炎症剤、消炎酵素剤）と併用することができる。そして、併用される剤の作用を増強させうる。特にモルヒネと併用すると、モルヒネの投与量を大幅に減じることができる。

本発明の有効成分であるラクトフェリンは、下部消化管のビフィズス菌および乳酸菌を増加しうるので、本発明の組成物は、放屁、下痢、腹部膨満等の副作用をとみなわず投与することができる。

本発明の組成物は、一般的には、有効成分として一日当たり約 0.1mg～約 50,000mg、好ましくは約 0.5mg～約 10,000mg を、最も好ましくは約 10mg～約 2,000mg を、一度にまたは分割して、本発明の組成物による処置が必要とされている患者に対し、食前、食事後、食間および／または就寝前等に投与することができる。投与量は、個別に、投与される患者の年齢、体重、および投与目的に応じて定めることもできる。

本発明の組成物の有効成分ラクトフェリンの鎮痛作用は、同時にナロキソンを投与すると消失する。ナロキソンはモルヒネと拮抗し、モルヒネの鎮痛作用を消失させることが知られているので、ラクトフェリンの鎮痛作用は、モルヒネと類似したメカニズムである可能性がある。つまり、モルヒネと同様に痛覚刺激を伝達する中枢の $\mu$ -オピオイド受容体に作用し、痛覚刺激の伝達を遮断しているらしい。しかし、ラクトフェリンはモルヒネのように耽溺性はなく、また、本発明者らの検討によれば、オピオイドの副作用である食欲抑制、体重減少等の症状は観察されず、投与された動物の一般状態は良好であった。したがって、ラクトフェリンがモルヒネと全く同じメカニズムにより痛覚刺激伝達をブロックしているのではないことは明らかである。そこで、本発明者らは、アジュバント関節炎を発症したラットでは、血漿のサイトカイン濃度が上昇することに着目し、これら

- のサイトカイン産生に対しラクトフェリンの経口投与がどのような影響を及ぼすかを詳細に検討した。すると、炎症のマーカーである腫瘍壊死因子 (TNF- $\alpha$ ) が有意に低下し、抗炎症性サイトカインであるインターロイキン-10 (IL-10) が有意に上昇した。つまり、ラクトフェリンを経口投与すると、免疫系の活性化により、炎症を鎮める方向に作用することがわかった。TNF- $\alpha$  のレベルを下げ、IL-10 を上げるというラクトフェリンの作用は、関節炎の治療には理想的な特性である。

- 経口投与された本発明の有効成分ラクトフェリンは、オピオイド系を介した鎮痛メカニズムで関節炎の疾病を改善するだけでなく、免疫系の活性化を抑制することによって、炎症の予防および治療効果を示すことが明らかになった。関節炎における疼痛の軽減は重要な臨床課題であり、ラクトフェリンが鎮痛作用と抗炎症作用とを持つことは、新規な関節炎治療経口薬として大変有用であることを意味する。

- 以下に、本発明を実施例により具体的に説明するが、本発明はそれに限定されるものではない。

#### 実施例

##### <製造例 1>

- 遺伝子組換えしてヒトラクトフェリン遺伝子を導入した黒麹菌によって生産されたヒトラクトフェリン (純度 98%以上) 0.5 グラムに、精製ブドウ糖 25 グラムを加え、精製水 5ml に溶かして無菌濾過する。濾液はバイアルに入れて凍結乾燥し、注射用のラクトフェリン末を製造する。

##### 25 <製造例 2>

コーティング機にラクトフェリン 50mg を含有する直径 8mm、重量 180mg の錠剤をいれ、カルボキシメチルエチルセルロース 9%、グリセリン脂肪酸エステル 1%、エタノール 45%、塩化メチレン 45%よりなる腸溶性コーティング液を噴霧し、対錠剤重量比で 12%の腸溶性コーティングを施して製品とした。

### ＜製造例 3＞

牛乳から抽出したラクトフェリン 1kg をアラビアゴム末 0.9kg を混合し、乾式造粒装置を用いて造粒し、粉末硬化植物油 60g を混合し、そして直径 10mm  
5 の平型杵で 1 錠の重量 100mg に成型して口腔貼付錠とした。

### ＜製造例 4（ラクトフェリン腸溶錠の製造）＞

ラクトフェリン 5.5kg、乳糖 8kg、結晶セルロース 10kg、カルボキシメチルセルロース・カルシウム 1kg、グリセリン脂肪酸エステル 0.5kg を混合し、実施  
10 例 1 のように乾式で顆粒化した後、ラクトフェリンを 1 錠中に 50mg 含む直径 8mm、重量平均 250mg の錠剤に加圧成型した。この錠剤を、コーティング機（フロイント産業（株）製、ハイコーター HCT-48N）に入れ、セラック 30 部、ヒマシ油 7 部をイソプロパノール 63 部に溶解した液を計算量だけ噴霧し、対錠剤重量比で 10% の腸溶性コーティングを施した錠剤を製造した。

15

### ＜実施例 1（ホルマリンテスト（急性実験））＞

ホルマリンテストは、典型的な痛覚刺激試験である。2% のホルマリン 50  $\mu$ l をラットのフットパッドに注射することによる足上げと足舐め行動を観察することにより、鎮痛効果を測定する方法である。

20 雄性のウイスター系ラット（6 週令）10 頭を無作為に 2 群に分け、ホルマリン注射の 1 時間前に、対照群には生理食塩水（1ml/kg）、ラクトフェリン群には生理食塩水に溶解したウシラクトフェリン（100mg/kg、tatura 乳業会社製、純度 87%）をそれぞれ腹腔内に投与した。1 時間後にホルマリン溶液をフットパッドに注射し、痛覚刺激による足上げ行動と足舐め行動を 1 時間にわたって計  
25 測した（図 1 および図 2）。

図 1 から明らかなように、ラクトフェリンをホルマリン刺激の 1 時間前に腹腔内投与すると、有意に足上げ行動が減少した。分散分析で両群のあいだには  $P < 0.0001$  以下の危険率で有意差があった。また、さらに高用量のラクトフェリンを投与すると、疼痛に起因するラットの足舐め行動も有意に減少した（データ

は示さず)。

また、図 2 に示すように、ホルマリン注射後の 50 分間における足上げ回数  
(ホルマリンによる第二相の痛覚(遅れてくる激しい刺すような痛み)刺激による)  
は、ラクトフェリン群の方が有意に減少しており、疼痛に対する感受性が鈍  
5 化していることを示唆した。

#### <実施例 2 (ホルマリンテスト(慢性実験))>

前の実施例はラクトフェリンを腹腔内に注射した際における痛覚に及ぼす影響  
を試験したものであった。次に、経口投与したラクトフェリンが痛覚にどのよう  
10 な影響を与えるかを検討した。

雄性のウイスター系ラット(6週令)14頭を無作為に2群に分け、一方の群  
は齧歯類用標準飼料粉末(日本クレア CE-2)、他方の群は CE-2 に 1%のウシ  
ラクトフェリンを添加し、4週間飼育した。ホルマリン溶液をフットパッドに注  
射し、痛覚刺激による足上げ行動と足舐め行動を1時間にわたって計測した  
15 (図3および図4)。

図3から明らかなように、ラクトフェリンは経口投与した場合でも、ホルマ  
リンによる痛覚刺激を緩和する方向に働いていること、すなわち、疼痛に対する  
感受性を鈍化させていることがわかった。分散分析で両群のあいだには  
P<0.0001以下の危険率で有意差があった。また、足舐め行動もラクトフェリン  
20 投与により有意に減少することを確認した。

図4から明らかなように、ラクトフェリンは経口投与した場合でも、ホルマ  
リンによる第二相の痛覚(遅れてくる激しい刺すような痛み)刺激を有意に抑制  
する作用を示した。

#### 25 <実施例 3 (非ステロイド系鎮痛消炎剤との比較)>

次に、ラクトフェリンの鎮痛作用を代表的な非ステロイド系鎮痛消炎剤である  
ジクロフェナックと比較した。

6週令の雄性ウイスター系ラットを用い、フットパッドにホルマリンを注射す  
る30分前に、ウシラクトフェリン並びに対照薬ジクロフェナックを腹腔内に投

与した。図 5 に、疼痛反応を、第一相（左側グラフ）と第二相（右側グラフ）に分けて示した。

図 5 から明らかなように、ラクトフェリンは用量依存性に疼痛の第一相および第二相の両方とも抑制することがわかった。一方、ジクロフェナックは疼痛第  
5 二相を抑制するが、抑制の度合いはラクトフェリンに及ばなかった。つまり、ラクトフェリンは「局在の明らかな刺すような鋭い痛み」と「遅れてから長く続く焼けるような痛み」の双方を抑制する作用があることがわかった。

次の図 7 と 8 に、両者の痛み抑制効果を経時的に測定した結果を示した。対  
照群（n=4）、ジクロフェナック群（n=5）とも、ホルマリン注射 30 分前に腹  
10 腔内に投与した。ジクロフェナックの疼痛抑制効果は、ホルマリン注射 50 分後あたりから消失しているのに対し、ラクトフェリンによる疼痛抑制は持続時間が長く、ホルマリン注射 60 分後でも有意な強い抑制効果が認められた。この結果、ラクトフェリンは局所的な麻酔作用と同時に、末期ガン患者が訴える長く続く焼けるような痛みに対しても抑制する作用があることが明らかになった。

15

#### <実施例 4（ストレスに対する作用）>

雄性のウイスター系ラット（6 週令）16 頭を無作為に 2 群に分け、一方の群（n=8）は齧歯類用標準飼料粉末（日本クレア CE-2）、他方の群（n=8）は CE-2 に 1%のウシラクトフェリンを添加し 8 週間飼育した。8 週間経過した後、  
20 ラットを一夜絶食させてから 50%エタノールを体重 kg あたり 5ml を強制経口投与し、引き続き拘束ストレスを 2 時間与えた。2 時間後に胃を摘出し、胃粘膜上の「出血点数」「出血面積」「潰瘍数」「大潰瘍数」「潰瘍面積」を計測した。

ラット 1 頭あたりの胃粘膜出血斑数は、ラクトフェリン投与により 87%に減少した。また、ラットあたりの出血面積も、ラクトフェリン群で 79%に減少していた。さらに、ラットあたりの潰瘍数、大潰瘍数はラクトフェリン投与群で約  
25 50%に低下しており、潰瘍面積は約 30%まで減少した。したがって、ラクトフェリンはストレスによる胃潰瘍形成を阻止したといえる。この実験結果は、ラクトフェリンがストレスを抑制する作用があることを示している。

### ＜実施例 5（関節炎予防）＞

リウマチ性関節炎の動物モデルとしてラットアジュバント関節炎モデルを用い、ラクトフェリン（LF）の経口投与による関節炎の予防・治療効果、およびその作用メカニズムを検討した。

- 5 評価項目は、足の腫脹による容積変化、Flexion test（関節曲げ伸ばし試験における関節の痛み）、およびリポ多糖（LPS）刺激によるサイトカイン産生の測定を行った。

ラット右後肢足底皮下にアジュバントを注射し、毎日 1 回、足の容積を測定して両後肢の腫脹率を求めた。被験物質は、0.5%CMC 溶液に懸濁し、1 日 1 回  
10 もしくは 1 日 2 回、アジュバント処置 3 時間前を初回投与時（day 0）とし、その後から 18 日間連日投与した。また、Flexion test は、アジュバント処置後 4 日後および 10 日後に腫脹したラットの足根関節を 10 回伸展し、関節の曲げ伸ばしたために痛覚を刺激されて悲鳴を上げた回数を測定することによりった。

図 9 には、0.5% CMC 水溶液 0.2 ml を経口投与した正常ラット（上段）、  
15 0.5%CMC 水溶液 0.2 ml を経口投与したアジュバント処置ラット（中段）、およびラクトフェリン、100mg/kg を経口投与したアジュバント処置ラット（下段）、格段とも、-1 はアジュバント処置足、-2 は反対足の写真を示した。また、図 10 には、対照群（control）、LF 100 mg/kg を一日 1 回経口投与した群（100 mg/kg sid）または 2 回経口投与した群（100 mg/kg bid）、デキサメサゾン 1 mg/kg を一日 1 回腹腔内投与した群（Dex 1mg/kg sid）の、アジュバント  
20 処置足およびアジュバント未処置足それぞれの膨張率（%）を示した。図 11 には、Flexion test の結果を示した。

図 10 に示したように、ラクトフェリン投与群はコントロール群に比較して、アジュバント処置後の急性炎症期から慢性炎症期のすべての期間、足の腫脹において有意な低値を示した。また、図 11 に示したように、ラクトフェリンの経口  
25 投与群は、1 日 1 回投与群および 1 日 2 回投与群とも悲鳴を上げることなく、疼痛反応を示さなかった。陽性対照としたデキサメサゾンを投与した群は、4 日目には悲鳴を上げた個体があった。

陽性対照としてのデキサメサゾン投与群は、ラクトフェリン投与群よりも足の

腫脹は低値を示したが、Flexion test では、ラクトフェリン投与群に比べその値は高めに推移した。また、デキサメサゾン投与群では、重度な体重増加の抑制が観察され、毛のツヤ等動物の状態が悪かったが、ラクトフェリン投与群は、コントロール群と同様の体重増加を示し、動物の一般状態も良好であった。

5

#### <実施例 6（関節炎治療）>

実施例 5 に引き続き、慢性炎症期にあるアジュバント処置後 19 日目よりラクトフェリン (100mg/kg) の経口投与を 7 日間行った。結果を図 12A～C に示した。

投与 7 日目において、ラクトフェリン投与群はコントロール群に比べて足の腫  
 10 脹が有意に低値を示していた。また、Flexion test においては、ラクトフェリン投与群はコントロール群に比べて 1 日目より試験終了日まで有意な低値を示した。デキサメサゾン (1mg/kg) 投与群においては、足の腫脹は投与 1 日後から明らかな収縮したが、Flexion test ではラクトフェリン投与群に比べその値は高めに推移した。すなわち、ラクトフェリンの痛覚過敏反応を軽減する効果は、図 12C に  
 15 示すように、デキサメサゾンとほぼ同等であるか、優っているといえる。

#### <実施例 7（単回経口投与による疼痛改善）>

次に、アジュバント関節炎モデルにおけるラクトフェリンの疼痛改善効果が単回経口投与によって得られるかを検討した。

20 アジュバント処置後、25 日目に動物を 6 群に分け、BSA（ウシ血清アルブミン）又は LF（ラクトフェリン）を 1 回投与し、3 時間後に実施例 5 と同様に Flexion test により疼痛指数を測定した。なお、Flexion test の 30 分前に生理食塩水、モルヒネ、ナロキソンを皮下投与した。

表 1 に実験のデザインを、図 13 に結果を示した。

25

表 1. 単回投与実験における薬物投与のタイミング

群	薬物投与	
	Flexion test 3 時間前	Flexion test 30 分前
1	BSA、100mg/kg	生理食塩水
2	BSA、100mg/kg	モルヒネ、3 mg/kg
3	BSA、100mg/kg	ナロキソン、3 mg/kg

4	LF, 10 mg/kg	生理食塩水
5	LF, 100 mg/kg	生理食塩水
6	LF, 100 mg/kg	ナロキソン、3 mg/kg

図 13 に示すように、ラクトフェリン 10~100mg/kg の単回投与によって関節の痛覚過敏反応は用量依存的に抑制された。また、このラクトフェリンの鎮痛作用は、ナロキソンによって完全に阻害された。

5

#### <実施例 8 (ラクトフェリンの作用機序)>

アジュバント関節炎モデルは、慢性炎症により免疫系の反応性が上昇しているため、LPS 刺激によるサイトカインの産生が正常動物に比べて大幅に増加することが知られている。本明細書で明らかになったラクトフェリンの関節炎に対する作用のメカニズムを調べるために、LPS 刺激によるサイトカイン産生に対するラクトフェリンの作用を、19 日間連続投与群および単回投与群について検討した。

アジュバント関節炎ラットに LPS 1mg/kg を腹腔内投与し、サイトカイン産生を刺激した。採血は、LPS 投与 3 時間後に行い、サイトカインは ELISA 法で測定した。ラクトフェリン単回投与群 (B 群及び C 群) は、実験日まで 0.5%CMC を毎日 1 回経口投与し、実験条件を 19 日間投与群と合わせた。ラクトフェリン 19 日間投与群 (E 群) は、アジュバント処置日から毎日 1 回、ラクトフェリンを経口投与した。表 2 に実験のデザインを、図 14 に実験結果を示した。

20

表 2. 実験条件

群	投与化合物	備 考
A	3%,CMC 溶液	無処置対照群
B	ラクトフェリン 100 mg/kg	採血 3 時間前に最終の経口投与
C	ラクトフェリン 10 mg/kg	同上
D	デキサメサゾン 1 mg/kg	採血 30 分前に最終の経口投与
E	ラクトフェリン 100 mg/kg	採血 3 時間前に経口投与
F	デキサメサゾン 1 mg/kg	採血 30 分前に腹腔内投与

結果、ラクトフェリンの連続投与群、単回投与群のどちらにおいても、有意な TNF- $\alpha$  産生の抑制、および IL-10 産生の増加が観察された。デキサメサゾン投与



群では、TNF- $\alpha$  産生、IL-10 産生とも減少が観察された。

#### <実施例 9（変形性関節症）>

自転車が転倒して右膝と右肘に外傷性の変形性関節症を発症した 66 歳男性と  
5 肥満して膝関節に変形性関節症を発症した 61 歳男性に、牛乳から抽出したラク  
トフェリンを腸溶性錠剤化して（製造例 4）経口投与した。投与は毎食後の 3 回  
とし、1 回の投与量を 150 mg（一日あたり 450 mg）とした。前者はジクロフ  
ェナック、後者はイブプロフェンの投与を受けたが、無効だった症例である。前  
者はラクトフェリン腸溶錠投与 1 週間後に、後者はラクトフェリン腸溶錠投与 2  
10 ヶ月後に疼痛を感じなくなり、変形性関節症が治癒した。

#### <実施例 10（慢性腰痛に対する効果）>

腰痛に悩む 55 歳の男性と 42 歳の女性ボランティアが、牛乳ラクトフェリン  
腸溶錠（製造例 4）を内服した。投与量は一日あたり 450 mg で均等に 3 分割し  
15 て食後に内服した。女性ボランティアは、投与 5 日目から、男性ボランティア  
は投与 12 日目から腰痛が消失し治癒した。

#### <実施例 11（四十肩に対する効果）>

四十肩でいずれか一方の手が肩より上がらない 52 歳、45 歳並びに 48 歳の男  
20 性ボランティアが牛乳ラクトフェリン腸溶錠（製造例 4）を内服した。いずれも、  
ジクロフェナックが無効だった症例である。投与量は一日あたり 450 mg で均等  
に 3 分割して食後に内服した。一人のボランティアは、投与 7 日目から、他の  
ボランティアはそれぞれ投与 12 日目、23 日目から腰痛が消失し治癒した。

#### 25 <実施例 12（モルヒネとの鎮痛作用の比較）>

ウシラクトフェリンおよび組換え体ヒトラクトフェリンによる鎮痛効果をモル  
ヒネと比較した。

6 週令の雄性ウイスター系ラットからなる各群（n=6~8）に、フットパッド  
にホルマリンを注射する 30 分前に、ウシラクトフェリン（bLF）0.1~100  $\mu$

g/rat、組換え体ヒトラクトフェリン (rhLF) 100  $\mu$ g/rat またはモルヒネ (Mor) 10  $\mu$ g/rat を脊椎投与 (intrathecal application) した。結果を図 15 に、第一相の足上げ回数 (左側グラフ) と第二相の足上げ回数 (右側グラフ) に分けて示した。

- 5 図 15 から明らかなように、ラクトフェリンの脊椎投与はモルヒネと同様に疼痛の第一相および第二相とも抑制することがわかった。

#### <実施例 13 (モルヒネの鎮痛作用の増強)>

- 10 実施例 13 と同様の方法で、モルヒネ 1~10,000ng/rat をウシラクトフェリン 100ng/rat と同時に (■)、あるいは単独で (●) 投与し、ラクトフェリンによるモルヒネの鎮痛作用の増強効果を検討した。結果を図 16 に、第一相の足上げ回数 (左側グラフ) と第二相の足上げ回数 (右側グラフ) に分けて示した。

図 16 から明らかなように、ラクトフェリンの投与は、モルヒネの鎮痛作用を第一相および第二相において数 10~100 倍以上に増強しうることがわかった。

15

#### <実施例 14>

ラクトフェリン腸溶錠を経口投与した場合の血中のラクトフェリン濃度を抗ウシラクトフェリン抗体を用いる ELISA 法により測定した。

- 20 [ELISA法によるラクトフェリン測定]

1. 96穴平底マイクロプレート (NUNC社製) に0.05M炭酸緩衝液 (pH9.6) で500倍 (2  $\mu$ g/ml) に希釈した抗ウシラクトフェリン抗体 (Goat, anti-bovine LF affinity purified, Bethyl Lab.社製) を100  $\mu$ l/well入れ、4℃で一晩吸着させた。
2. プレートに0.05%Tween20-リン酸緩衝液 (PBS) にて3回洗浄した。ブロッキング剤として、1.3%ゼラチン含有PBSを300  $\mu$ l入れ、室温で30分間インキュベートした。
- 25 3. プレートに0.05%Tween20-PBSにて3回洗浄し、0.05%Tween20、0.5M NaClおよび1%ウシ血清アルブミン (BSA) を含むPBS (以下、NB-PBS) にて希釈したスタンダードあるいはサンプルを100  $\mu$ l/well入れ、4℃で8時間反応さ

せた。

4. プレートを0.05%Tween20-PBSにて3回洗浄し、NB-PBSにて1,000倍に希釈した抗ウシラクトフェリン抗体 (Rabbit, anti-bovine LF, IgG grade, ヤガイ社製) を100  $\mu$ l/well入れ、4℃で8時間反応させた。

5 5. プレートを0.05%Tween20-PBSにて3回洗浄し、NB-PBSにて5,000倍に希釈したペルオキシダーゼ標識抗ウサギIgG抗体 (Goat, anti-rabbit IgG, American Quail International社製) を100  $\mu$ l/well入れ、4℃で8時間反応させた。

6. プレートを0.05%Tween20-PBSにて3回洗浄した。さらに、基質溶液としてリン酸塩緩衝液に溶解した2,2-azino-bis (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) Diammonium salt (1.18mM, 三光純薬社製) を100  $\mu$ l/well入れ、37℃で1時間反応させた。

7. マイクロプレートリーダー (Sunrise Series, Type Classic, チカン社製) にて、波長 405nm の吸光度を測定し、スタンダードで作成した検量線によりラクトフェリン濃度を算出した。

体重 60kg の男性にラクトフェリン腸溶錠 (製造例 5) を 18 錠 (900mg / 60kg = 15mg/kg) 投与したところ、4hr 後および 8hr 後に採取した血液中には、ラクトフェリンが確認された (図 17A) 。

20 ラクトフェリン腸溶錠の投与および血液採取は、次のスケジュールで行った。すなわち、7:00 に朝食を採った後、9:30 少し前にラクトフェリン投与前の血液採取し (Pre サンプル)、9:30 にラクトフェリン腸溶錠 (製造例 4) を投与した後、13:30 および 17:30 に血液採取した (それぞれ、4hr および 8hr サンプル) (図 17B) 。

25

## 請 求 の 範 囲

1. ラクトフェリンを有効成分とする、第一相の痛みおよび第二相の痛みを含む痛み、不安およびストレスからなる群より選択される少なくとも一つの疾患または状態を処置するための組成物。
- 5
2. ラクトフェリンを有効成分とする、慢性関節リウマチ、変形性関節症、四十肩及び五十肩、テニス肘および野球肩等のスポーツ外傷ならびに腰痛を含む関節炎または骨接合部位の疾患に伴う第一相の痛みおよび第二相の痛みを含む痛み、並びに炎症を処置するための組成物。
- 10
3. ラクトフェリンを有効成分とする、IL-10 産生の誘導および／または TNF- $\alpha$  産生の抑制により改善される疾患または状態を処置するための組成物。
- 15
4. 請求項1～3のいずれ1項に記載された組成物であって：  
有効成分および医薬として許容される添加剤を乾燥状態で混合し；  
所望により、混合物を乾燥状態で強圧成型し、次いで成型物を一定の大きさの微粒状物または顆粒とし；そして  
所望により、混合物、微粒状物または顆粒を打錠するかもしくはカプセルに充填する
- 20
- ことを含む工程により得られうる、粉末剤、散剤、顆粒剤、錠剤またはカプセル剤の形態である、前記組成物。
5. 腸溶性製剤の形態である、請求項1～4のいずれか1項に記載の組成物。
- 25
6. 有効成分を含む顆粒を打錠したものを、胃液に対しては抵抗性があり、小腸内で溶解する基剤を主成分とする皮膜でコーティングしてなる、請求項1～4のいずれか1項に記載の組成物。

7. 有効成分を一日当たり約0.1mg～約50,000mg、好ましくは約0.5mg～約10,000mgを、最も好ましくは約10mg～約2,000mg投与するための、請求項1～6のいずれか1項に記載の組成物。
- 5 8. 以下の工程を含む、請求項1～7のいずれか1項に記載の組成物の製造方法：  
有効成分および医薬として許容される添加剤を乾燥状態で混合し；  
所望により混合物を乾燥状態で強圧成型し、次いで成型物を一定の大きさの微粒状物または顆粒とし；そして  
混合物、微粒状物または顆粒を打錠するかもしくはカプセルに充填する
- 10 ことを含む工程により得られうる、粉末剤、散剤、顆粒剤、錠剤またはカプセル剤の形態である、前記組成物。
9. 第一相の痛みおよび第二相の痛みを含む痛み、不安およびストレスからなる群より選択される少なくとも一つの疾患または状態を処置するための医薬の製造
- 15 における、ラクトフェリンの有効成分としての使用。
10. 慢性関節リウマチ、変形性関節症、四十肩及び五十肩、テニス肘および野球肩等のスポーツ外傷ならびに腰痛を含む関節炎または骨接合部位の疾患に伴う第一相の痛みおよび第二相の痛みを含む痛み、並びに炎症からなる群より選択される
- 20 る少なくとも一つの疾患または状態を処置するための医薬の製造における、ラクトフェリンの有効成分としての使用。
11. IL-10 産生の誘導および／または TNF- $\alpha$  産生の抑制により改善される疾患または状態を処置するための医薬の製造における、ラクトフェリンの有効成分と
- 25 しての使用。
12. 医薬が：  
有効成分および医薬として許容される添加剤を乾燥状態で混合し；  
所望により混合物を乾燥状態で強圧成型し、次いで成型物を一定の大きさの微

粒状物または顆粒とし；そして

混合物、微粒状物または顆粒を打錠するかもしくはカプセルに充填することを含む工程により得られうる、粉末剤、散剤、顆粒剤、錠剤またはカプセル剤の形態である、請求項9～11のいずれ1項に記載された使用。

5

13. 医薬が、腸溶性製剤の形態である、請求項9～12のいずれか1項に記載の使用。

10 14. 医薬が、有効成分を含む顆粒を打錠したものを、胃液に対しては抵抗性があり、小腸内で溶解する基剤を主成分とする皮膜でコーティングしてなる、請求項9～12のいずれか1項に記載の使用。

15 15. 医薬が、有効成分を一日当たり約0.1mg～約50,000mg、好ましくは約0.5mg～約10,000mgを、最も好ましくは約10mg～約2,000mg投与するための、請求項9～14のいずれか1項に記載の使用。

16. 医薬が、以下を含む工程により得られうる、粉末剤、散剤、顆粒剤、錠剤またはカプセル剤の形態である、請求項9～15のいずれか1項に記載の使用：

有効成分および医薬として許容される添加剤を乾燥状態で混合し；

20 所望により混合物を乾燥状態で強圧成型し、次いで成型物を一定の大きさの微粒状物または顆粒とし；そして

混合物、微粒状物または顆粒を打錠するかもしくはカプセルに充填する。

25 17. ラクトフェリンを有効成分を用いる、第一相の痛みおよび第二相の痛みを含む痛み、不安およびストレスからなる群より選択される少なくとも一つの疾患または状態の処置方法。

18. ラクトフェリンを有効成分として用いる、慢性関節リウマチ、変形性関節症、四十肩及び五十肩、テニス肘および野球肩等のスポーツ外傷ならびに腰痛を含む

関節炎または骨接合部位の疾患に伴う第一相の痛みおよび第二相の痛みを含む痛み、並びに炎症からなる群より選択される少なくとも一つの疾患または状態の処置方法。

- 5 19. ラクトフェリンを有効成分として用いる、IL-10 産生の誘導および／または TNF- $\alpha$  産生の抑制により改善される疾患または状態の処置方法。

20. 有効成分を、以下の工程により選られうる粉末剤、散剤、顆粒剤、錠剤またはカプセル剤の形態で用いる、請求項17～19のいずれ1項に記載された方法：

- 10 有効成分および医薬として許容される添加剤を乾燥状態で混合し；  
所望により混合物を乾燥状態で強圧成型し、次いで成型物を一定の大きさの微粒状物または顆粒とし；そして  
混合物、微粒状物または顆粒を打錠するもしくはカプセルに充填する。

- 15 21. 有効成分が、腸溶性製剤の形態である、請求項20に記載の方法。

22. 有効成分が、有効成分を含む顆粒を打錠したものを、胃液に対しては抵抗性があり、小腸内で溶解する基剤を主成分とする皮膜でコーティングしてなる、請求項20に記載の方法。

20

23. 有効成分を一日当たり約0.1mg～約50,000mg、好ましくは約0.5mg～約10,000mgを、最も好ましくは約10mg～約2,000mg投与する、請求項21に記載の方法。

- 25 24. 有効成分を一日当たり約0.1mg～約50,000mg、好ましくは約0.5mg～約10,000mgを、最も好ましくは約10mg～約2,000mg投与する、請求項22に記載の方法。

25. 有効成分が、以下を含む工程により得られうる、粉末剤、散剤、顆粒剤、錠

剤またはカプセル剤の形態である、請求項21に記載の方法：

有効成分および医薬として許容される添加剤を乾燥状態で混合し；

所望により混合物を乾燥状態で強圧成型し、次いで成型物を一定の大きさの微粒状物または顆粒とし；そして

- 5      混合物、微粒状物または顆粒を打錠するかもしくはカプセルに充填する。

26. 有効成分が、以下を含む工程により得られうる、粉末剤、散剤、顆粒剤、錠剤またはカプセル剤の形態である、請求項22に記載の方法：

有効成分および医薬として許容される添加剤を乾燥状態で混合し；

- 10      所望により混合物を乾燥状態で強圧成型し、次いで成型物を一定の大きさの微粒状物または顆粒とし；そして

混合物、微粒状物または顆粒を打錠するかもしくはカプセルに充填する。

27. モルヒネと併用するための、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

15

28. モルヒネと併用される、請求項 9～11 のいずれか 1 項に記載の使用。

29. モルヒネと併用される、請求項9～11のいずれか1項に記載の処置方法。



図1

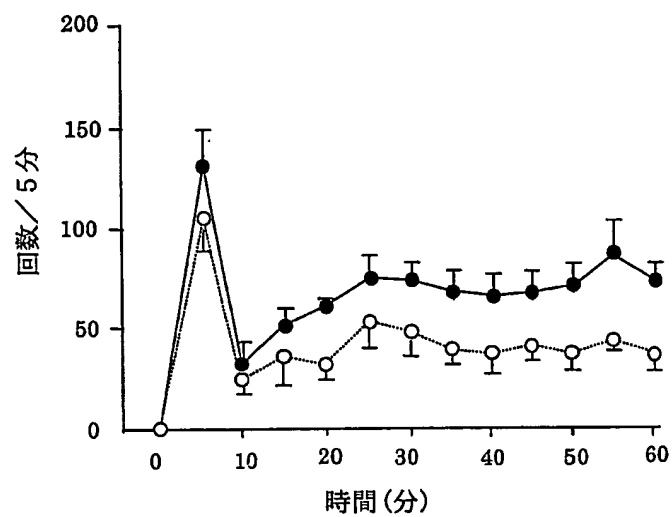


図2

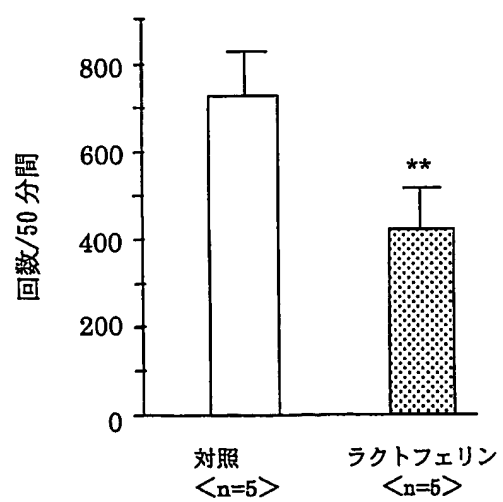


図3

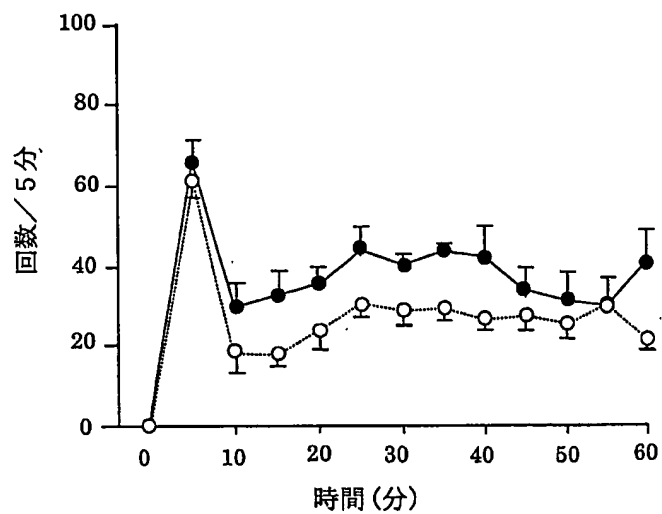


図4

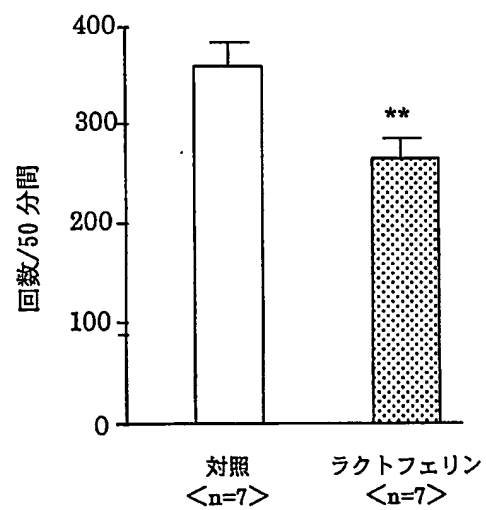


図5

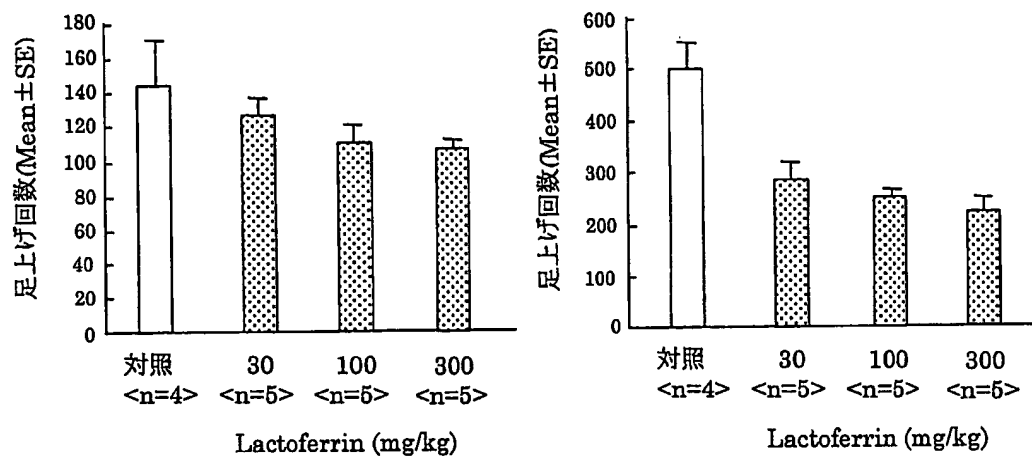


図6

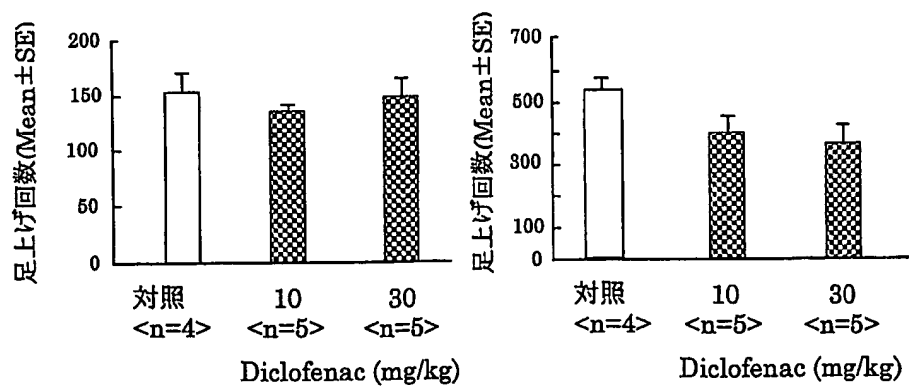


図7

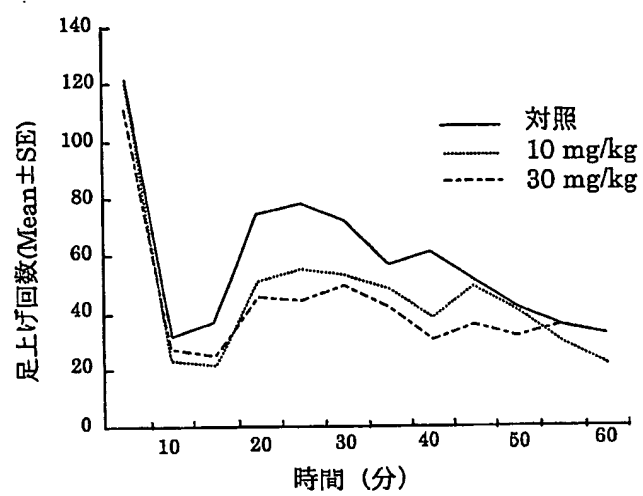
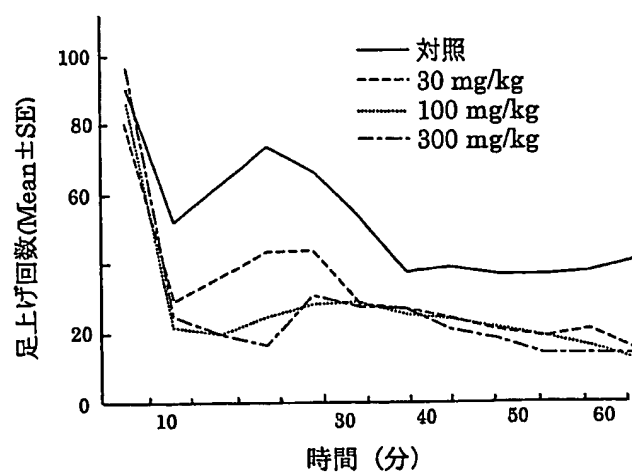


図8



9



Control-1



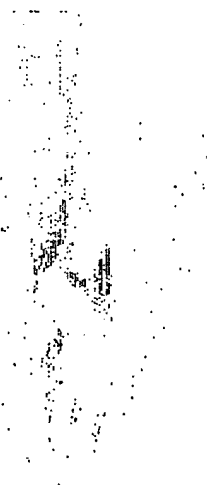
Control-2



Adjuvant-1



Adjuvant-2



Adjuvant+LF-1



Adjuvant+LF-2

図10

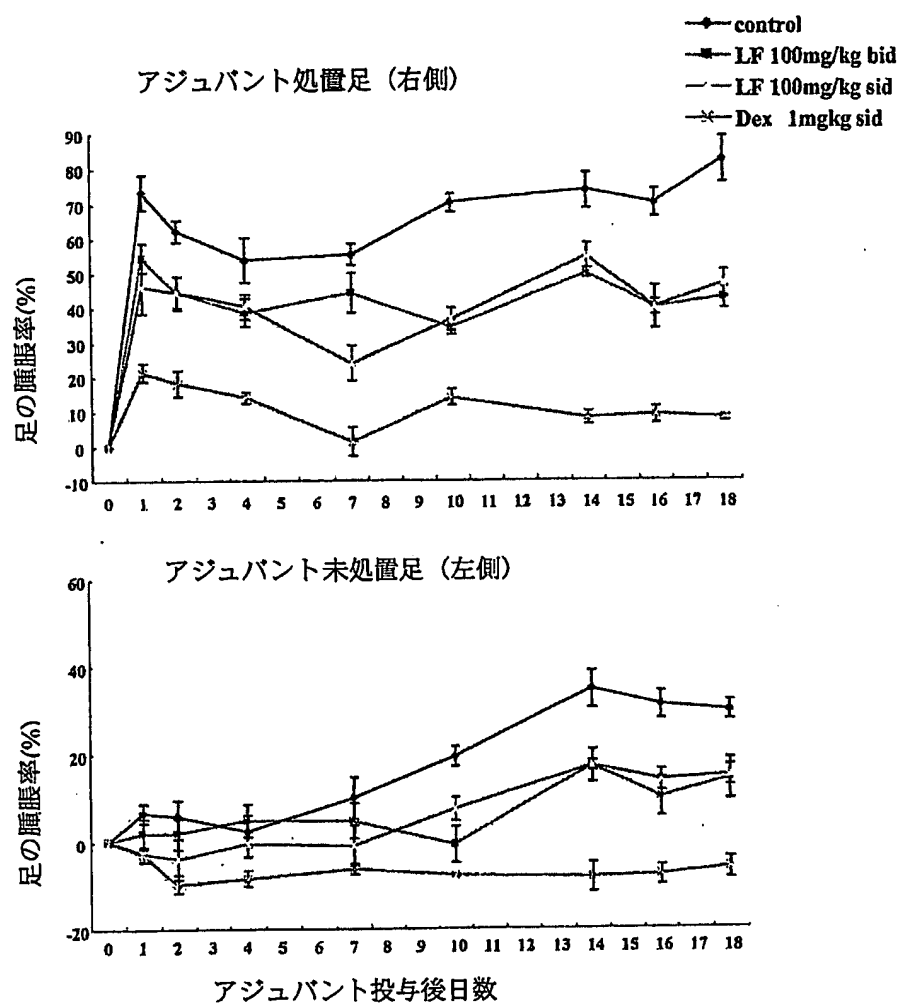


図11

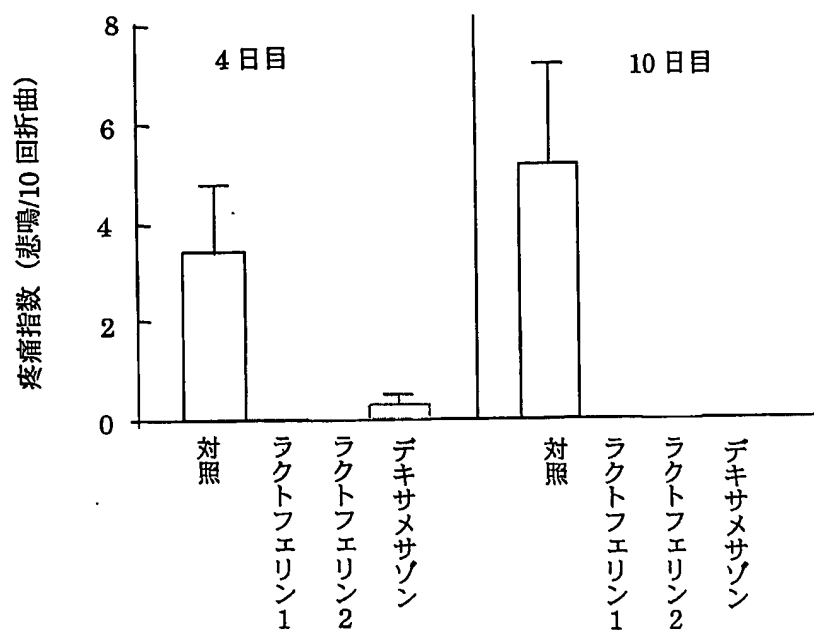


図12A

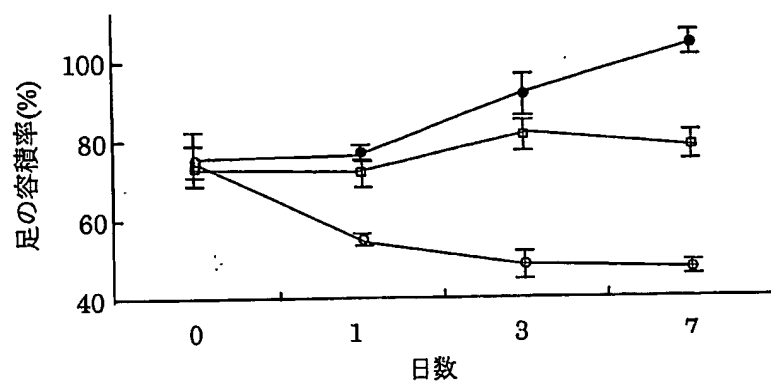


図12B

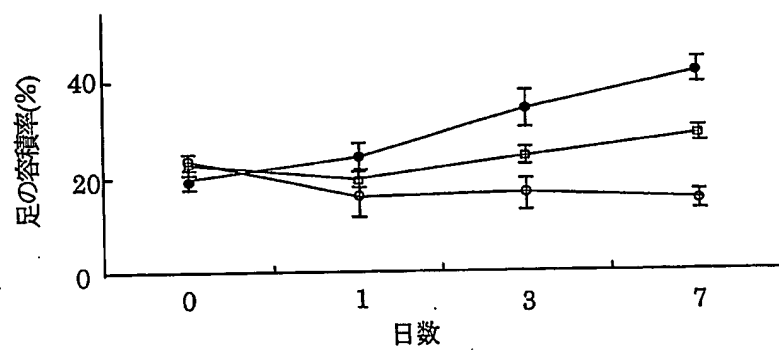


図12C

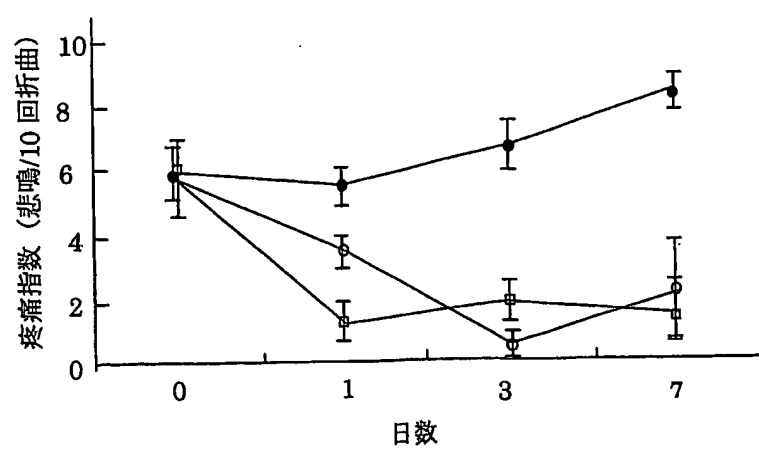




図13

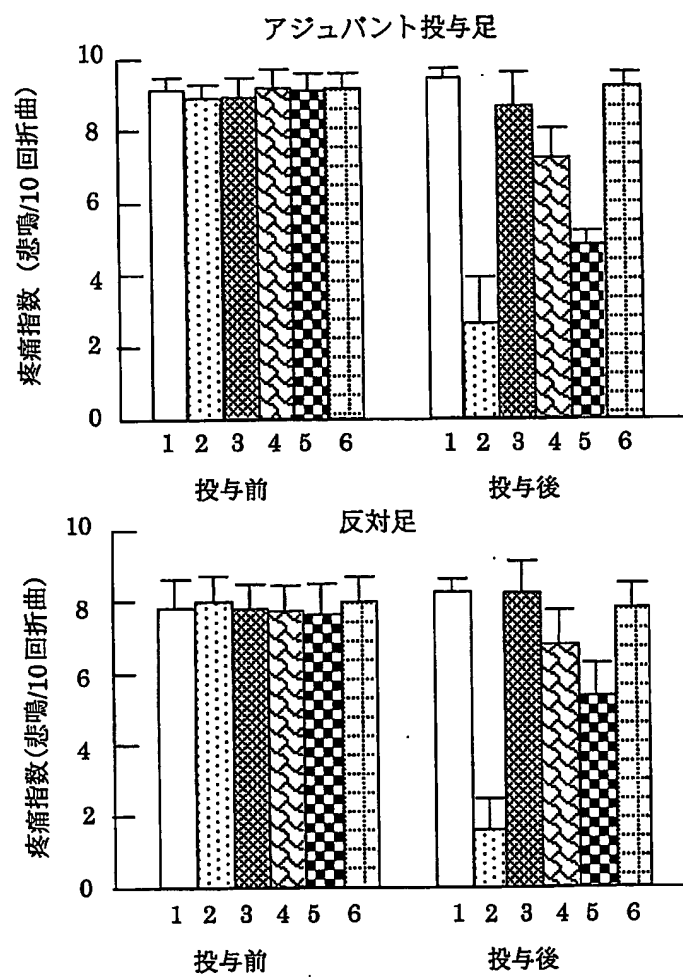


図14

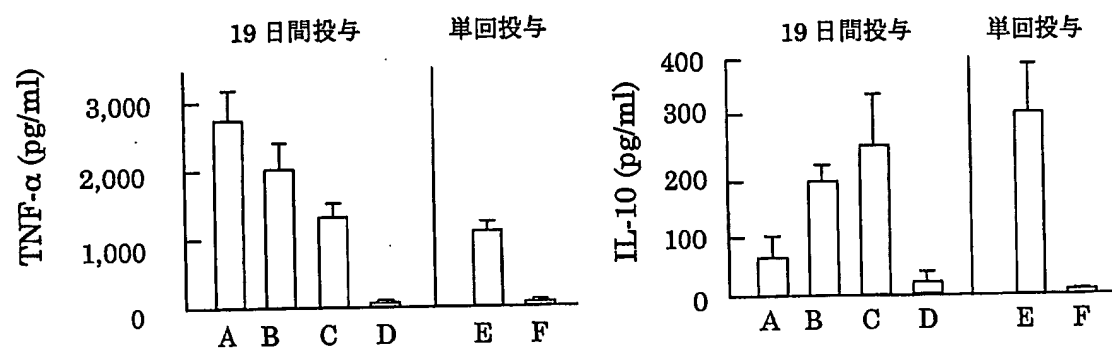


図15

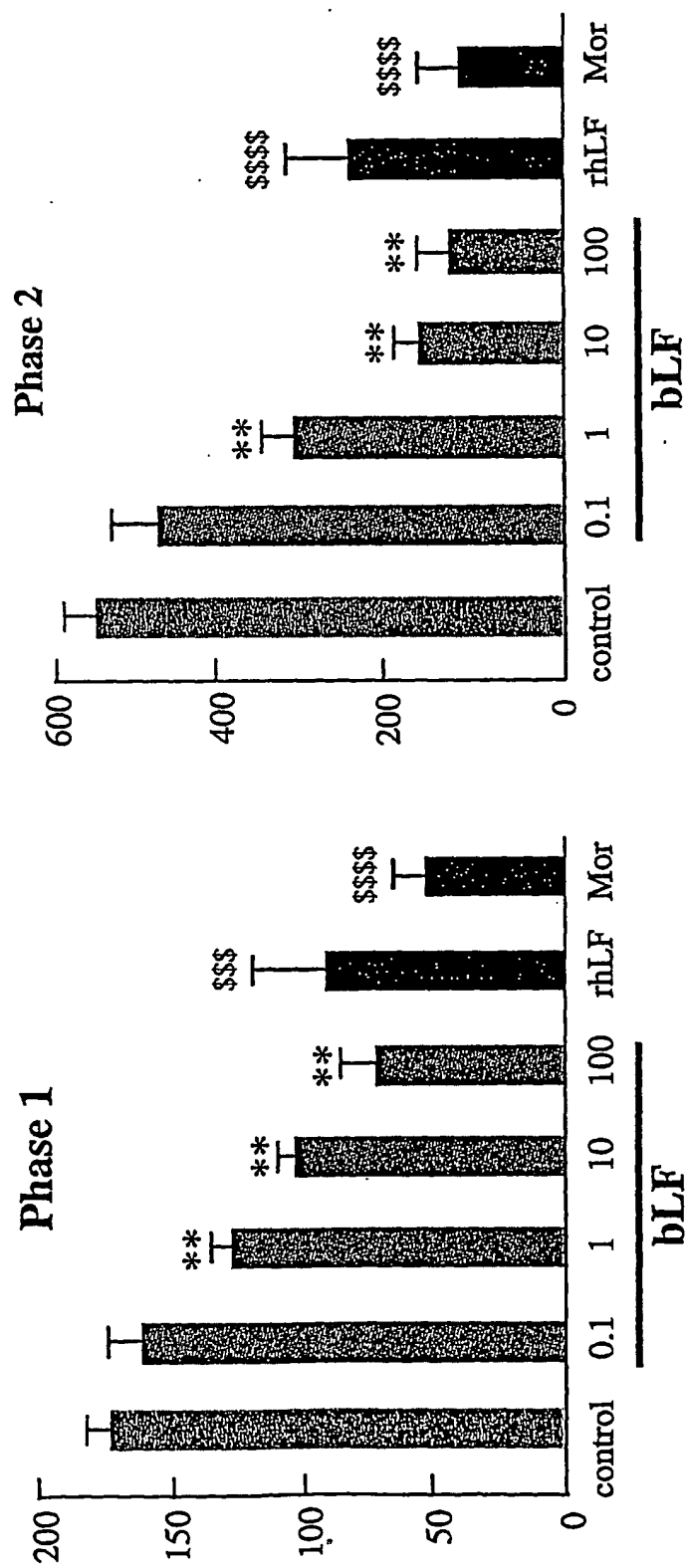


図16

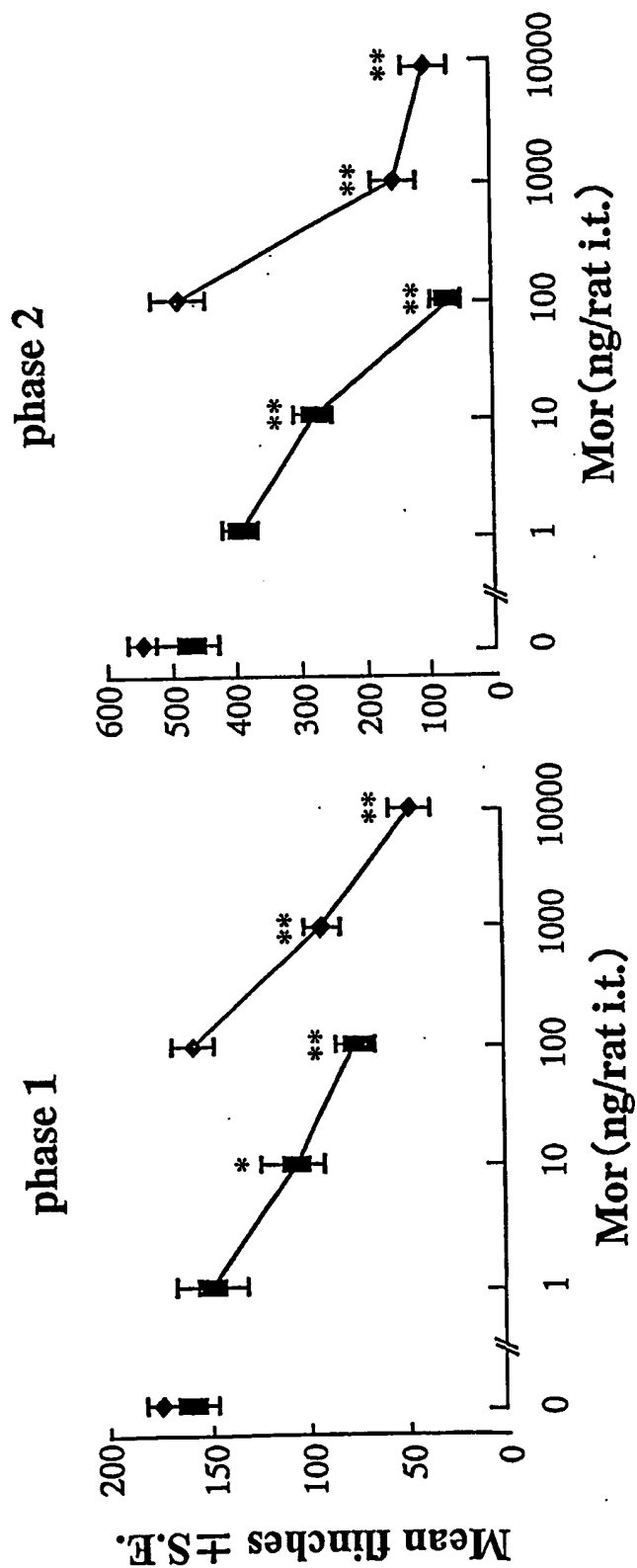


図17A

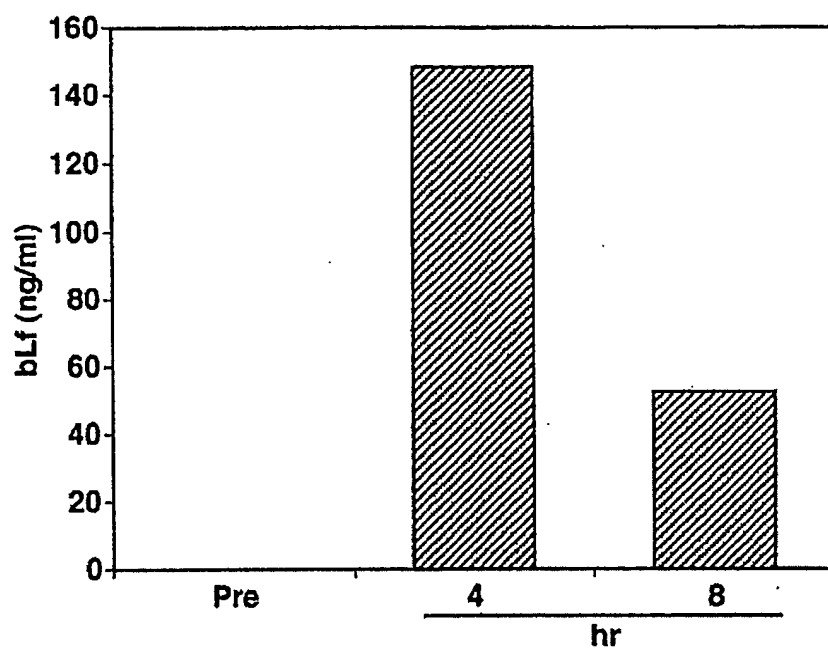
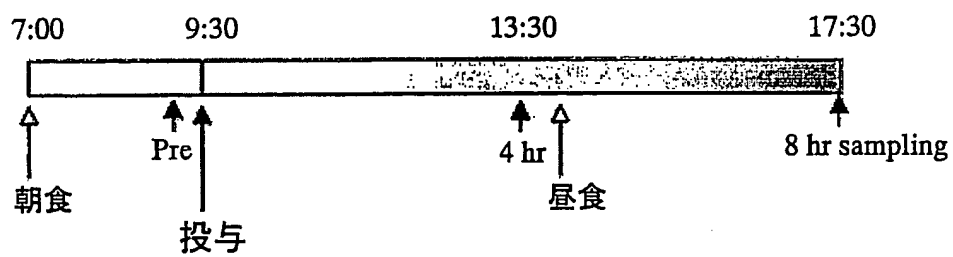


図17B



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/00350

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.<sup>7</sup> A61K38/40, 9/14, 9/16, 9/20, 9/48, A61P25/00, 25/04,  
25/22, 29/00, 41/00, 43/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.<sup>7</sup> A61K38/00-38/58, A61K9/00-9/72, 47/00-47/48

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1926-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2002  
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2002 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2002

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA/MEDLINE/BIOSIS/EMBASE (STN), WPI/L (QUESTEL), JICST FILE (JOIS)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 4918008 A (Kailash K. Gauri), 17 April, 1990 (17.04.90),	1-3, 7, 9-11, 15
Y	Claim 1; column 3, lines 30 to 38	4-6, 8, 12-14, 16
A	& WO 86/04217 A & AU 8653594 A & DE 3518828 A & EP 210204 A & JP 62-501472 A & DK 8604463 A	27, 28
X	EP 730868 A1 (SATO, Tamotsu), 11 September, 1996 (11.09.96),	1, 7, 9, 15 4-6, 8, 12-14, 16
Y	Page 3, lines 31 to 34	27, 28
A	& JP 08-217693 A & CA 2169810 A	
X	JP 2001-354583 A (Morinaga Milk Industry Co., Ltd.),	1, 7, 9, 15 4-6, 8, 12-14, 16
Y	25 December, 2001 (25.12.01), Claim 1 (Family: none)	

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 31 March, 2003 (31.03.03)	Date of mailing of the international search report 15 April, 2003 (15.04.03)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/00350

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2001-048804 A (Meiji Milk Products Co., Ltd.), 20 February, 2001 (20.02.01),	2, 3, 7, 10, 11, 15
Y	Claim 1; Par. No. [0017] (Family: none)	4-6, 8, 12-14, 16
X	WO 93/13790 A1 (BIO SERAE LABORATORIES S.A.), 22 July, 1993 (22.07.93),	2, 3, 7, 10, 11, 15
Y	Claim 1 & JP 05-186368 A & EP 620737 A1 & DE 69313261 E & ES 2106319 T3	4-6, 8, 12-14, 16
X	WO 98/44940 A1 (AGENNIX, INC.), 15 October, 1998 (15.10.98),	2, 3, 7, 10, 11, 15
Y	Claims 1, 11; page 17, lines 16 to 17 & AU 9869647 A & EP 979099 A1 & CN 1262625 A & MX 9909240 A1 & JP 2001-519815 A & NZ 500712 A	4-6, 8, 12-14, 16
X	NAKAJIMA, M. et al., Oral administration of	3, 7, 11, 15
Y	lactoferrin enhances the productions of IFN- $\gamma$ and IL-10 in spleen cells cultured with concanavalin A or lipopolysaccharide, Biomedical Research, 1999, Vol.20, No.1, pages 27 to 33	4-6, 8, 12-14, 16
Y	JP 2001-048808 A (Morinaga Milk Industry Co., Ltd.), 20 February, 2001 (20.02.01), Column 11; example 3 (Family: none)	4-6, 8, 12-14, 16
Y	WO 00/22909 A2 (BIOTECH AUSTRALIA PTY. LTD.), 27 April, 2000 (27.04.00), Abstract; Claim 32 & AU 200010712 A	5, 6, 13, 14
Y	WO 91/04015 A1 (BUKH MEDITEC A/S), 04 April, 1991 (04.04.91), Claim 45; page 27 & JP 5-500668 A & AU 9065051 A & US 5213808 A & EP 493513 B1 & DE 69009769 E & JP 2927950 B2	5, 6, 13, 14
Y	EP 955058 A1 (MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.), 10 November, 1999 (10.11.99), Text; example & WO 98/30235 A1 & KR 2000070051 A & US 6319895 B1	4, 8, 12, 16

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/00350

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 17-26, 29

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 17 to 26 and 29 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of (continued to extra sheet)

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Claims 1 to 16, 27 and 28 involve compositions containing lactoferrin as the active ingredient for treating 4 types of diseases or conditions, i.e., (1) pain, (2) anxiety, (3) stress and (4) diseases ameliorated by inducing IL-10 production and/or inhibiting TNF- $\alpha$  production. However, drugs containing lactoferrin as the active ingredient had been publicly known before the application of the present case and these 4 therapeutic uses are neither the same nor correspond to each other. Thus, these inventions cannot be regarded as a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept. Such being the case, this international application has 4 groups of inventions. (Continued to extra sheet.)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/00350

Continuation of Box No.I-1 of continuation of first sheet(1)

the Regulations under the PCT, to search.

Continuation of Box No.II of continuation of first sheet(1)

Claim 8

Based on claim 8, it cannot be clearly understood whether the invention according to this claim is an invention of a production process or an invention of a composition. Thus, claim 8 fails to fulfill the requirement of clearness of invention in the meaning as described in PCT Article 6.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl <sup>7</sup> A61K38/40, 9/14, 9/16, 9/20, 9/48, A61P25/00, 25/04, 25/22, 29/00, 41/00, 43/00		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl <sup>7</sup> A61K38/00-38/58, A61K9/00-9/72, 47/00-47/48		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1926-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2002年 日本国実用新案登録公報 1996-2002年 日本国登録実用新案公報 1994-2002年		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CA/MEDLINE/BIOSIS/EMBASE (STN), WPI/L (QUESTEL), JICSTファイル (JOIS)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	US 4918008 A (Kailash K. Gauri) 1990.04.17, Claim1、第3欄第30-38行参照	1-3, 7, 9-11, 15
Y	& WO 86/04217 A & AU 8653594 A & DE 3518828 A & EP 210204 A & JP 62-501472 A & DK 8604463 A	4-6, 8, 12-14, 16
A		27, 28
X	EP 730868 A1 (Sato, Tamotsu) 1996.09.11, 第3頁第31-34行参照	1, 7, 9, 15
Y	& JP 08-217693 A & CA 2169810 A	4-6, 8, 12-14, 16
A		27, 28
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 31.03.03	国際調査報告の発送日 15.04.03	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 岡崎 美穂 電話番号 03-3581-1101 内線 3452	4C 3039

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	JP 2001-354583 A (森永乳業株式会社) 2001. 12. 25, 請求項1参照 (ファミリーなし)	1, 7, 9, 15 4-6, 8, 12-14, 16
X Y	JP 2001-048804 A (明治乳業株式会社) 2001. 02. 20, 請求項1、【0017】段落参照 (ファミリーなし)	2, 3, 7, 10, 11, 15 4-6, 8, 12-14, 16
X Y	WO 93/13790 A1 (BIO SERAE LABORATOIRES S.A.) 1993. 07. 22, Claim1参照 & JP 05-186368 A & EP 620737 A1 & DE 69313261 E & ES 2106319 T3	2, 3, 7, 10, 11, 15 4-6, 8, 12-14, 16
X Y	WO 98/44940 A1 (AGENNIX, INC.) 1998. 10. 15, CLAIM1, 11、第17頁第16-17行参照 & AU 9869647 A & EP 979099 A1 & CN 1262625 A & MX 9909240 A1 & JP 2001-519815 A & NZ 500712 A	2, 3, 7, 10, 11, 15 4-6, 8, 12-14, 16
X Y	NAKAJIMA, M. et al, Oral administration of lactoferrin enhances the productions of IFN- $\gamma$ and IL-10 in spleen cells cultured with concanavalin A or lipopolysaccharide, Biomedical Research, 1999, Vol. 20, No. 1, p. 27-33	3, 7, 11, 15 4-6, 8, 12-14, 16
Y	JP 2001-048808 A (森永乳業株式会社) 2001. 02. 20, 第11欄実施例3参照 (ファミリーなし)	4-6, 8, 12-14, 16
Y	WO 00/22909 A2 (BIOTECH AUSTRALIA PTY. LIMITED) 2000. 04. 27, Abstract, Claim32参照 & AU 200010712 A	5, 6, 13, 14
Y	WO 91/04015 A1 (BUKH MEDITEC A/S) 1991. 04. 04, Claim45, P. 27参照 & JP 5-500668 A & AU 9065051 A & US 5213808 A & EP 493513 B1 & DE 69009769 E & JP 2927950 B2	5. 6. 13. 14
Y	EP 955058 A1 (MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.) 1999. 11. 10, Test, Example参照 & WO 98/30235 A1 & KR 2000070051 A & US 6319895 B1	4, 8, 12, 16

## 第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 17-26, 29 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、  
請求の範囲 17-26, 29 は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT 第17条(2)(a)(i) 及び PCT 規則 39.1(iv) の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であって PCT 規則 6.4(a) の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

請求の範囲 1-16, 27, 28 には、ラクトフェリンを有効成分とする、(1) 痛み、(2) 不安、(3) ストレス、(4) IL-10 産生の誘導および/または TNF- $\alpha$  産生の抑制により改善される疾患、という4種の疾患または状態を処置するための組成物が含有される。しかしながら、ラクトフェリンを有効成分とする医薬は本願出願時に公知であり、上記4つの治療用途は、互いに同一ではなく、対応するものでもないから、単一の一般的発明概念を形成するように連関している一群の発明には当たらない。よって、この国際出願には4つの発明が存在する。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☒ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。  
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

## &lt;発明の明確性について&gt;

## ・請求の範囲 8

請求の範囲 8 の記載では、該請求項に係る発明が製造方法の発明であるのか、組成物の発明であるのかを明確に把握することができない。よって、請求の範囲 8 は PCT 6 条における明確性の要件を欠いている。